

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: B200234020

UDC _____

厦 门 大 学

博 士 学 位 论 文

细菌 R08 对 Ag(I)的吸附与还原
及其应用研究

Study on Biosorption and Bioreduction of Ag(I)
by Bacterium R08 and their Applications

孙道华

指导教师姓名: 袁东星 教授

李清彪 教授

专 业 名 称: 环 境 科 学

论文提交日期: 2007 年 02 月

论文答辩时间: 2007 年 03 月

学位授予日期: 2007 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: 李鑫刚 教授

评 阅 人: 梁 斌 教授

评 阅 人: 吴立明 研究员

2007 年 3 月

厦门大学学位论文原创性声明

兹呈交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。
本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版，有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅，有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索，有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

1、保密（ ），在 年解密后适用本授权书。

2、不保密（ ）

（请在以上相应括号内打“√”）

作者签名：

日期： 年 月 日

导师签名：

日期： 年 月 日

摘 要

纳米材料由于其维度降低而具备许多特殊的物理和化学性质,成为当今材料科学研究的热点之一。已有的金属纳米材料的制备方法包括物理法和化学法,开发简单易行的、绿色的制备方法将进一步拓展纳米材料的应用领域。自然界的微生物与金属离子间的吸附还原作用,为新方法的实施提供了可行性。本论文以筛选自金银矿区的地衣芽孢杆菌*Bacillus licheniformis* (R08)为实验菌株,研究该菌株吸附、还原Ag(I)的特性,并基于此制备得到纳米银,尝试开发该纳米银在抗菌和催化方面的应用。主要内容和结果如下:

探讨了R08干菌体对Ag⁺的吸附特性。采用单因素法考察了溶液pH、反应温度、吸附时间、初始Ag⁺浓度、菌体浓度等条件对吸附过程的影响。在Ag⁺初始浓度为100 mg·L⁻¹, R08浓度为1 g·L⁻¹, pH=6, 反应时间30min, 室温条件下, R08菌体对Ag⁺的吸附量为76.3 mg·g⁻¹干菌体, 吸附率达到76.30%。R08对Ag⁺的吸附等温线可用Langmuir方程很好地拟合, 根据该方程计算Ag⁺的最大平衡吸附量为136 mg·g⁻¹干菌体。吸附前后R08干菌体的细胞形貌没有发生变化。生物吸附机制的研究表明, R08干菌体吸附Ag⁺存在静电吸附、络合、沉淀、氧化还原机制之综合, 氨基和羧基为R08络合Ag⁺的主要官能团。

探讨了碱性条件下R08干菌体对[Ag(NH₃)₂]⁺的快速还原特性。采用单因素法考察了[OH⁻]、反应温度、初始[Ag(NH₃)₂]⁺浓度、菌体浓度等条件对还原过程的影响。在[OH⁻]为0.02~0.05 mol·L⁻¹, 反应温度为60℃, 菌体浓度与银浓度的比例为1:1的条件下, 反应4~6 h后银还原率即可达到90%以上, 所得纳米银的平均粒径为5.2 nm。改用硝酸银及氧化银作为银源, 仍能实现还原并得到稳定的银溶胶。还原具有自催化性质, 推测强碱性条件下, 还原经历了Ag₂O→Ag₂O-Ag⁰→Ag₂O-Ag_n⁰→Ag_n⁰的过程, FTIR分析表明, 生物质上的氨基、羟基、羰基、羧基等在还原过程中起重要作用。

银溶胶对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌均有较强的杀菌能力, 杀菌率随银溶胶浓度降低而降低, 浓度为2.5 mg·L⁻¹的银溶胶对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的杀菌率分别为90.4%和96.8%。固定于α-Al₂O₃载体上的纳米银(银负载量1%)杀

菌比银溶胶更为迅速。对金黄色葡萄球菌, 5 min后杀菌率达到近100%; 对大肠杆菌, 接触30 s杀菌率即达到100%。采用有机溶剂可沉淀银溶胶, 制得的水溶性纳米银粉基本保持了还原后的粒径, 银含量在50% (wt%) 以上。

将含生物质的纳米银负载于 α - Al_2O_3 上, 制备得到生产环氧乙烷用银催化剂, 在空速为 $7000\cdot\text{h}^{-1}$, 反应温度为 257°C 条件下, 选择性达到 87%, 优于同比条件下用传统化学浸渍法制备的催化剂。生物质在焙烧过程中所形成的海绵状蓬松结构在一定程度上起了保持银微粒粒径的作用, SEM结果表明该催化剂的活性组分具有更加理想的分散度。由于环氧乙烷用银催化剂要求低比表面积的载体和较高的银负载量, 简单的空气焙烧活化难以维持原有的 10 nm以下的尺度。将微生物还原产物分别在空气气氛和氮气气氛下高温焙烧, 可分别获得多孔结构的银以及纳米银粒子/碳复合材料。

本研究有助于丰富和完善对微生物吸附还原的认识, 为微生物细胞的资源化提供了一条新途径, 同时在银纳米颗粒制备技术上提出了一条新颖的、相对绿色的技术路线。

关键词: 生物吸附; 生物还原; 银; 纳米粒子; 乙烯环氧化; 环氧乙烷; 催化剂; 抗菌;

Abstract

The applications of nanomaterials have received growing attention due to their unique physicochemical properties. At present, there are several physical and chemical methods for synthesis of metal nanoparticles. However, development of simple and eco-friendly synthetic route would help promoting further interest in the synthesis and application of metal nanoparticles. Nature has provided exciting possibilities of utilizing biological systems for this purpose. This comes from the fact that microorganisms while interacting with metal ions have shown to reduce the ions and form metal particles. This study aims at the characteristic of biosorption and bioreduction of Ag(I) by *Bacillus licheniformis* R08, which was isolated from gold mine. Silver nanoparticles produced by bioreduction with R08 had been attempted to apply in antibiosis and catalyst preparation. The main contents and some successful results have been listed as following.

The biosorption properties of *Bacillus licheniformis* R08 for silver ions were evaluated. Experimental parameters, including pH, temperature, biosorption time, initial silver ion concentration and biomass concentration were optimized with a univariate experimental design. Under the optimized conditions, the silver biosorption capacity and biosorption efficiency could reach $76.3\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ and 76.3%, respectively. Equilibrium isotherms of biosorption by R08 were fitted by Langmuir equation and the theoretical maximum biosorption capacity was $136\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. No surface morphology change of the dried biomass of R08 was observed after biosorption. The mechanisms of silver biosorption by R08 were discussed. Results showed that silver biosorption by R08 mainly depended on electrostatic adsorption, ion exchange, complexation and deposition. Amino and carboxyl groups were confirmed to be the main active groups that could combine with silver ions.

The bioreduction of $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ by R08 was well promoted by introducing OH^- to the system. Experimental parameters, including $[\text{OH}^-]$, temperature, initial silver ion concentration and biomass concentration were optimized with a univariate experimental design. Under the optimized conditions, the reduction time was shortened to 4~6 h from more than one month without OH^- . The reduction ratio was

higher than 90% and the average size of silver particles was 5.2 nm. Similar reduction could take place when $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ was replaced by AgNO_3 or Ag_2O . As the silver bioreduction presented the characteristic of autocatalysis, the reaction mechanism probably followed the course of $\text{Ag}_2\text{O} \rightarrow \text{Ag}_2\text{O}-\text{Ag}^0 \rightarrow \text{Ag}_2\text{O}-\text{Ag}_n^0 \rightarrow \text{Ag}_n^0$. FTIR spectra showed the amino, hydroxyl, carbonyl and carboxyl groups might play important roles during the bioreduction process.

The free silver sol presented good antibacterial performance towards the *S. aureus* and *E. coli*. When the concentration of silver sol was $2.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, antibacterial efficiency towards the *S. aureus* and *E. coli* reached 90.4% and 96.8%, respectively. Silver immobilized on $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ (1%Ag) had faster antibacterial speed than free silver sol. The time to reach 100% antibacterial efficiency towards the *S. aureus* and *E. coli* were 5 min and 30 s, respectively. Water-soluble nanosilver powder could be prepared by precipitating the silver sol with organic solvent as precipitator, such as ethanol and acetone. The silver particles could keep their original size after precipitation and the silver mass content of the silver powder was higher than 50%.

Silver catalysts used for ethylene epoxidation were prepared by loading nanosilver produced by bioreduction on $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$, which had the selectivity of 87% superior to those prepared with traditional chemical methods. SEM images indicated the active component prepared with bioreduction method had better dispersibility due to the protection of sponge frame formed during the calcination. Since high silver loading and low specific surface area support were required for EO catalysts, it was difficult for active component to keep the original size ($<10 \text{ nm}$). A kind of polyporous silver and silver nanoparticle/amorphous carbon composite could be prepared by treatment at high temperature under the atmosphere of air and nitrogen, respectively.

This study is helpful to the better understanding of silver biosorption and bioreduction processes. Moreover, it provides a cost-effective and eco-friendly technique for the preparation of silver nanoparticles.

Key words: biosorption; bioreduction; silver; nanoparticles; ethylene epoxidation; ethylene oxide; catalyst; antibacterial

目 录

摘 要	I
ABSTRACT	III
第 1 章 前言	1
1.1 纳米银的性质、应用及制备方法	1
1.1.1 纳米银的物理化学性质	1
1.1.2 纳米银的应用	2
1.1.3 纳米银的制备方法	3
1.2 Ag(I)的生物吸附	8
1.2.1 生物吸附的概念	8
1.2.2 生物吸附材料	9
1.2.3 生物吸附的机理	10
1.3 Ag(I)的生物还原	12
1.3.1 生物还原的概念	12
1.3.2 生物还原材料	13
1.3.3 生物还原的机理	15
1.4 本论文的研究目标及研究内容	17
1.4.1 研究目标	17
1.4.2 研究内容	18
第 1 章参考文献	18
第 2 章 细菌R08 对银离子的吸附特性	26
2.1 引言	26
2.2 实验部分	26
2.2.1 仪器和试剂	26

2.2.2 实验方法.....	27
2.3 结果和讨论	29
2.3.1 吸附条件的影响.....	29
2.3.2 吸附等温线方程.....	34
2.3.3 吸附 Ag^+ 前后R08 干菌体的表征	36
2.3.4 吸附机理探讨.....	38
2.4 本章小结	45
第 2 章参考文献	45
第 3 章 细菌R08 对银氨离子的还原特性.....	48
3.1 引言	48
3.2 实验部分	48
3.2.1 仪器和试剂.....	48
3.2.2 实验方法.....	49
3.3 结果与讨论	52
3.3.1 还原条件的影响.....	52
3.3.2 生物还原产物的表征.....	61
3.3.3 生物还原机理探讨.....	67
3.4 本章小结	69
第 3 章参考文献	70
第 4 章 纳米银的抗菌作用.....	73
4.1 引言	73
4.2 实验部分	74
4.2.1 仪器和试剂.....	74
4.2.2 实验方法.....	74
4.3 结果与讨论	75

4.3.1 纳米银粉的制备.....	75
4.3.2 银溶胶的抗菌性能.....	77
4.3.3 固定化纳米银的抗菌性能.....	79
4.4 本章小结	81
第 4 章参考文献	81
第 5 章 纳米银在催化剂制备中的应用	82
5.1 引言	82
5.2 实验部分	83
5.2.1 仪器和试剂.....	83
5.2.2 实验方法.....	83
5.3 结果与讨论	86
5.3.1 纳米银粉中Na离子的去除.....	86
5.3.2 焙烧温度对纳米银固定于载体的影响.....	88
5.3.3 焙烧温度对催化剂性能的影响.....	89
5.3.4 不同方法制备的催化剂的性能比较.....	93
5.3.5 多孔银及纳米银粒子/碳复合材料制备	94
5.4 本章小结	96
第 5 章参考文献	97
结论与建议.....	99
攻读博士学位期间发表的论文	102
致 谢	103

Table of contents

Abstract (in Chinese)	I
Abstract (in English)	III
Chapter 1 Preface	1
1.1 Properties, application and preparation of silver nanoparticles	1
1.2.1 Physical and chemical properties of silver nanoparticles.....	1
1.2.2 Applications of silver nanoparticles.....	2
1.2.3 Preparation methods of silver nanoparticles.....	3
1.2 Biosorption of Ag(I)	8
1.2.1 Concepts of biosorption.....	8
1.2.2 Materials for biosorption.....	9
1.2.3 Mechanisms of biosorption.....	10
1.3 Bioreduction of Ag(I)	12
1.3.1 Concepts of bioreduction.....	12
1.3.2 Materials for bioreduction.....	13
1.3.3 Mechanisms of bioreduction.....	15
1.4 Objectives and interests of this research	17
1.4.1 Research objectives.....	17
1.4.2 Research contents.....	18
References for Chapter 1	18
Chapter 2 Biosorption of silver ions by R08	26
2.1 Introduction	26
2.2 Experimentals	26
2.2.1 Instruments and reagents.....	26
2.2.2 Experimentals.....	27
2.3 Results and discussion	29
2.3.1 Effect of biosorption parameters.....	29
2.3.2 Isotherm adsorption model fitting.....	34

2.3.3	Characterization of R08 before and after biosorption.....	36
2.3.4	Discussion of biosorption mechanisms.....	38
2.4	Summary of Chapter 2.....	45
	References for Chapter 2.....	45
Chapter 3	Bioreduction of $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ by R08.....	48
3.1	Introduction.....	48
3.2	Experimentals.....	48
3.2.1	Instruments and reagents.....	48
3.2.2	Experimentals.....	49
3.3	Results and discussion	52
3.3.1	Effect of bioreduction parameters.....	52
3.3.2	Characterization of product through bioreduction.....	61
3.3.3	Discussion of bioreduction mechanism.....	67
3.4	Summary of Chapter 3.....	69
	References for Chapter 3.....	70
Chapter 4	Application of nanosilver in antibiosis.....	73
4.1	Introduction.....	73
4.2	Experimentals.....	74
4.2.1	Instruments and reagents.....	74
4.2.2	Experimentals.....	74
4.3	Results and discussion.....	75
4.3.1	Preparation of nanosilver powder.....	75
4.3.2	Antibacterial ability of free bio-silver sol.....	77
4.3.3	Antibacterial ability of immobilized bio-silver sol.....	79
4.4	Summary of Chapter 4.....	81
	References for Chapter 4.....	81
Chapter 5	Application of nanosilver in catalyst preparation.....	82
5.1	Introduction.....	82
5.2	Experimentals.....	83

5.2.1 Instruments and reagents.....	83
5.2.2 Experimentals.....	83
5.3 Results and discussion.....	86
5.3.1 Removal of sodium ions.....	86
5.3.2 Immobilization temperature for bio-silver sol on the support.....	88
5.3.3 Optimization of calcination temperature.....	89
5.3.4 Comparison of catalysts prepared with different methods.....	93
5.3.5 Preparation of porous silver nanoparticles/carbon composite...	94
5.4 Summary of Chapter 5.....	96
References for Chapter 5.....	97
Conclusions and suggestions.....	99
Published articles.....	102
Acknowledgements.....	103

第1章 前言

随着现代生物技术发展的突飞猛进, 生物技术已被应用于许多工业领域, 对生物体各种理化性质的研究日渐深入。近年来, 人们发现生物质对溶液中的某些金属离子有着特殊的物理化学作用。基于这一认识, 许多学者开始探索生物质与金属离子之间的相互作用及其潜在利用, 这方面的研究工作即成为环境生物技术的热点之一。

1.1 纳米银的性质、应用及制备方法

1.1.1 纳米银的物理化学性质

银具有良好的导电性、延展性、感光性和化学稳定性, 已广泛应用于化工、电子、感光材料、医药以及航天航空等领域。在所有贵金属中, 银的化学性质最活泼。它能溶于硝酸、热的浓硫酸, 并微溶于热的稀硫酸; 在盐酸和“王水”中, 其表面能够生成氯化银薄膜。水溶液中的银离子易被吸附, 且见光易转化成单质银, 加入硝酸有利于稳定银离子; 硝酸银溶液中加入过量的浓氨水则生成比较稳定的银氨离子^[1]。

纳米材料是指在三维空间中至少有一维处于纳米尺度范围(1~100 nm)或由它们作为基本单元构成的材料。纳米材料大致可分为纳米颗粒(零维)、纳米纤维(一维)、纳米膜(二维)、纳米复合材料、纳米结构等五类。其中纳米颗粒研究开发时间最长、技术最为成熟, 是制备其他纳米材料的基础^[2]。纳米材料的物理、化学性质既不同于微观的原子、分子, 也不同于宏观物体, 纳米介于宏观世界和微观世界之间, 人们把它叫做介观世界。当常态物质被加工到极其微细的纳米尺度时, 会出现特异的表面效应、体积效应、量子尺寸效应和宏观隧道效应等, 其光学、热学、电学、磁学、力学、化学等性质也就相应地发生十分显著的变化^[2-3], 这些改变使之在电子学、光学、化工陶瓷、生物、医药等诸多领域得到了广泛的应用。

纳米银是指颗粒尺寸为1~100 nm之间的银材料。纳米银除了具有上述纳米

材料所具有的各项物理化学性质外,还有其它独特的性能。例如,银的常规熔点为 960.5 °C,而银纳米颗粒的熔点可低于 100 °C。因此,超细银粉制成的导电浆料可以进行低温烧结,此时元件的基片无须是耐高温的陶瓷材料,甚至可采用塑料^[4]。纳米级单质银还具有类似于绝缘体的高电阻等。因此,作为一种性能优良的贵金属纳米材料,纳米银的应用前景十分广泛。

1.1.2 纳米银的应用

目前,纳米银的应用领域主要包括以下几个方面。

1.1.2.1 催化剂

纳米材料因其大比热容、高硬度、大比表面积和多活性位点等特性,成为催化剂制备的理想材料。况且,纳米材料作为催化剂具有无细孔、无其他成分、使用条件温和以及使用方便等特点,可以避免常规催化剂制备方法的一些缺点,如反应物向其内孔缓慢扩散带来的某些副产物的生成。而以金属银为活性组分的催化剂可用于二烯烃、炔烃的选择性加氢制单烯烃,乙烯的选择性氧化制环氧乙烷,芳烃的烷基化制烷基芳烃,甲烷氨氧化制氢氰酸,甲醇的选择性氧化制甲醛等。因此,将纳米级的银颗粒引入催化剂的制备过程,将使众多制备反应的催化剂性能得以改善,意义重大。例如,银一直以来都作为乙烯环氧化催化剂的主要成分,减小其粒径是提高这种催化剂性能的主要手段,采用纳米级银颗粒将大大提高此种催化剂的性能。此外,已有研究表明,以纳米银为活性组分还能提高甲烷选择还原NO的催化剂活性^[5]。

1.1.2.2 电子电路

银纳米颗粒因其特有的物理化学性质,在集成电路中有广泛的应用。用纳米银粉替代工业上目前使用的微米银粉有着突出的优点。一是纳米银粉所制备的电子浆料的颗粒度更小,在进行丝网印刷时可采用孔径更小的丝网,从而得到更致密的表面涂层,同时提高丝印操作的工效;二是在电子浆料中用纳米银粉代替微米级银粉,可在不降低器件性能的前提下使单位元器件的银耗下降,大大降低成本;此外,掺入纳米级银颗粒能够提高集成电路的银基导电粘结剂和导电胶的质量。掺杂了银纳米颗粒的绝缘体和半导体还具有优良的光学特性,适于制造各种

新型光电器件^[6-7]。

1.1.2.3 杀菌材料

单质银具有广谱的杀菌能力。银用于抗菌治疗具有无毒、无过敏、无耐药性、无交叉药物干扰等诸多优点。纳米银具有更高的比表面积，其高活性的表面原子比例更大，因而杀菌活性也更强，使用中可降低用量，节约成本，因此广泛用于抗菌防臭纤维、抗菌塑料、抗菌涂料、抗菌陶瓷等的生产中。大量研究表明，银及其离子是最有效的纺织品无机抗菌防臭剂^[8]。目前对纳米银抗菌材料的研究也较为充分，如陈水挟等发现负载了银颗粒的活性炭纤维具有很强的杀菌能力^[9]。载银活性碳纤维的杀毒消毒机理，主要是银离子通过与微生物结合，进入微生物体内并导致微生物死亡。由于银制备成纳米级的颗粒后，比表面积大幅提高，表面原子占更大比例，材料的反应活性即杀菌活性也相应提高。例如纳米级银材料附着在棉纱纤维上后，可以作为杀菌消毒的烧伤敷料^[10]。

1.1.2.4 其它用途

表面增强拉曼散射是现代分析化学研究领域的重要工具，而纳米银在表面增强拉曼散射研究中有重要作用。目前以有序纳米银棒（或纳米线）阵列为基底的高灵敏度表面增强拉曼散射（SERS）研究已获得成功^[11]。用纳米银粉制备化学电池、燃料电池和光化学电池中的电极，可以增大电极与液体或气体之间的接触面积，提高电池效率，有利于电池的小型化。如Nishimura等利用纳米银的这一特性，将纳米银粉沉积在石墨表面上，制得了具有优异特性的银石墨复合材料电极^[12]。纳米银的低温导热系数高而比表面积大，这使得纳米银成为优良的低温导热材料。据报道，较之传统材料，利用纳米银作稀释制冷剂的热交换器的效率可高出 30%^[13-14]。

1.1.3 纳米银的制备方法

1.1.3.1 物理方法

（1）负载型纳米银粒的制备

负载型纳米颗粒的制备需要将银纳米颗粒负载在一定的载体上。如

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库